UNTERSUCHUNGEN ZUM VERHALTEN DER LDH-ISOENZYME IM VERLAUF DER AKUTEN VIRUS-HEPATITIS UND ANDERER LEBERERKRANKUNGEN DES MENSCHEN

Ehrhard Kellner

1972

AUS DER MEDIZINISCHEN KLINIK DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN
Direktor: Professor Dr. Herbert Schwiegk

UNTERSUCHUNGEN ZUM VERHALTEN DER LDH - ISOENZYME IM VERLAUF DER AKUTEN VIRUS - HEPATITIS UND ANDERER LEBERERKRANKUNGEN DES MENSCHEN

. INAUGURAL - DISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin verfaßt und einer Hohen Medizinischen Fakultät

der

Ludwig-Maximilians-Universität München

vorgelegt
von
Ehrhard Kellner
aus
Braunschweig

München 1972

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Berichterstatter:	Priv.-Doz.Dr.J. Eisenburg
Mitberichterstatter:	Prof. Dr. H. Schwiegk
Dekan:	Prof. Dr. W. Spann
Tag der mündlichen Prüfung:	21.3.1972

Herrn Priv.-Doz. Dr. med. J. Eisenburg danke ich für die freundliche Überlassung des Themas, besonders aber für seine Hilfe.
Für seine Unterstützung und Anregung möchte ich Herrn Dr. A. Munte danken.

Inhaltsverzeichnis

A. Einleitung:
- Allgemeine Bedeutung der Isoenzyme der LDH
- Verteilung (der Isoenzyme der LDH)
- Nomenklatur
- Chemische Zusammensetzung

B. Methodik:
- Vorbereitung der Objektträger
- Elektrophoretische Trennung
- Färbung
- Auswertung der Pherogramme

C. Ergebnisse:
- Lebergesunde Kontrollpersonen
- Krankengut (Übersicht)
- Ausgeheilte Hepatitis
- Extrahepatischer Verschluss
- Chron. toxischer Leberschaden (Fettleber)
- Akute Virushepatitis
- Chronische Hepatitis oder Cirrhose mit ausgeprägter Aktivität
- Chronische Hepatitis oder Cirrhose mit mäßiger Aktivität

D. Zusammenfassung

E. Literaturverzeichnis

F. Lebenslauf

Einleitung:

Die 1956 von Wróblewski und Gregory [40] in die Klinik eingeführte LDH gehört zur großen Gruppe der Dehydrogenasen. Diese katalysieren reversible Redox -Reaktionen in Gegenwart von Koenzymen, die als Wasserstoff-Donatoren oder - Akzeptoren dienen. Die LDH verwandelt reversibel Laktat in Pyruvat in Anwesenheit von NAD. Das Enzym reduziert auch verschiedene andere α-Keto- und α, γ-Di-Ketosäuren. Eine vergleichbare Aktivität aber entfaltet es nur gegenüber α-Ketobutyrat und Pyruvat. Es wurde nachgewiesen, daß die LDH uneinheitlich zusammengesetzt ist. Diese Heterogenität wurde 1950 von Meister [41] festgestellt. Eine Beobachtung , die Neilands [42] 1952 bestätigen konnte, indem er nachwies, daß sich die Gesamtaktivität der LDH auf zwei Fraktionen verteilt. Vessell und Bearn [43] klärten die Heterogenität der LDH im menschlichen Serum auf. Wieland und Mitarbeiter [44-46] fanden mit Hilfe der Elektrophorese auf Stärkegel und Menbranfolien in Seren und Organextrakten von Säugetieren 5 LDH Fraktionen. Dieser Befund wurde seither vielfach bestätigt. [47-49]

Isoenzyme oder Isozyme sind nach Markert und Möller Enzyme, die bei verschiedenen chemischen und physikalischen Eigenschaften die gleiche Reaktion katalysieren [32]. Wegen der prozentualen Verteilung der Gesamtaktivität eines Enzyms auf seine Isoenzyme in den einzelnen Organen, ist oft eine Differenzierung in Bezug auf die Herkunft aus diesem sogenannten

Enzymmuster möglich.
Die Isoenzyme der Laktat-dehydrogenase stellen hierfür ein Beispiel dar.

Allgemeine Bedeutung der Isoenzyme:

Sie alle katalysieren dieselbe Reaktion (die Umwandlung von Laktat in Pyruvat oder umgekehrt s. o.) zeigen aber deutliche Unterschiede in ihrem Aufbau.

Die fünf Isoenzyme der LDH lassen sich mit verschiedenen Methoden nachweisen. Die Konzentration der einzelnen Fraktionen in den verschiedenen Organen kann unterschiedlich sein aber auch teilweise übereinstimmende Verteilungen aufweisen [1) 2)]: In Herz, glatter Muskulatur, Erythrozyten, Nieren und Gehirn findet sich vor allem die schnellaufende LDH 1 und 2. Diese Isoenzymfraktionen wandern elektrophoretisch schnell, sind relativ hitzestabil und werden von DEAE-Zellulose absorbiert. Sie katalysieren die Umsetzung von α-Ketobutyrat zu α-Hydroxybutyrat schneller als die langsam wandernden Fraktionen. Das diese Reaktion katalysierende Enzym wurde daher α-Hydroxybutyrat-Dehydrogenase (α-HBDH) genannt. Die Bestimmung der HBDH-Konzentration im Serum hat sich zur Ermittlung erhöhter LDH 1 - und LDH 2 - Werte und folglich zur Diagnose des Herzinfarktes sehr bewährt [23)].
Die Spezifität des HBDH - Tests kann durch Bestimmung des HBDH / LDH-Quotienten verbessert werden, der normaler-

weise zwischen 0,6 und 0,8 liegt und nach Herzinfarkt häufig erhöht ist. Das Absinken des LDH-HBDH - Quotienten unter die Norm ist ein empfindliches Zeichen für einen Leberschaden [25) 26)].

Schneider et al. [24)] fanden bei Virushepatitis einen flachen Kurvenverlauf der HBDH innerhalb des Normalbereichs, während die Gesamt-LDH pathologische Werte erreichte, die noch von SGPT und SGOT übertroffen wurden. Bei stark gesteigerter Gesamt-LDH-Aktivität ließen sich auch erhöhte HBDH-Werte feststellen.

Verteilung der Isoenzyme:

In Leber und Skelettmuskel herrschen die langsam laufenden Fraktionen 4 und 5 vor. Sie sind hitzestabil, werden nicht von DEAE-Zellulose adsorbiert und sind im Serum gesunder Personen nur in Spuren nachzuweisen.

LDH 3 findet sich als größte Fraktion in Milz, Lymphknoten, Pankreas, Thyreoidea und Nebenniere.

Eine weitere Fraktion (LDH x) fand sich in menschlichem postpubertären Hoden. Von den zahlreichen Mitteilungen sollen nur einige erwähnt werden [5-11)].

Aus der Verteilung der einzelnen Fraktionen in den verschiedenen Organen erkennt man, daß Organe, die einen hohen O_2- Bedarf haben, relativ reich an LDH 1 sind, während weniger O_2- empfindliche Organe - wie

Leber und Skelettmuskel - vorwiegend LDH 5 besitzen. - Entartet ein Gewebe karzinomatös, so erwartet man nach Warburg eine gesteigerte anaerobe Glykolyse. Man findet deshalb in diesem Fall eine Verschiebung der LDH-Aktivität zum LDH 5-Bereich ("Lebertyp"!) hin [12]. Tumorzellen enthalten praktisch ausschließlich LDH 5.-

Nomenklatur:

Nach Bekanntwerden der diagnostischen Möglichkeiten, die sich aus der Bestimmung der LDH-Isoenzyme ergeben, numerierte man die einzelnen Fraktionen entsprechend ihrer elektrophoretischen Trennung. Das Standing Committee of Enzymes of the International Union of Biochemistry setzte nun durch Übereinkunft fest, daß als Isoenzym 1 die Fraktion bezeichnet wird, die der Anode am nächsten liegt, da sie die größte negative Ladung trägt. Im amerikanischen Schrifttum bezeichnet man häufig noch umgekehrt, d. h. die nach der elektrophoretischen Trennung der Kathode am nächsten liegende Fraktion wird als Isoenzym 1 bezeichnet. Außerdem sind Bezeichnungen wie Herzspezifische Fraktion oder Leber-spezifische Fraktion gebräuchlich.

Die fortlaufende Numerierung der einzelnen Fraktionen von Anode zu Kathode [3) 4)] ist der vorliegenden Arbeit zugrunde gelegt. Daraus ergibt sich, daß z.B. die Isoenzymfraktion 1 als herzspezifisch und die Isoenzymfraktion 5 als leberspezifisch bezeichnet wird.

Die Fraktionen 1 und 2 werden heute als identisch mit der α-HBDH-Aktivität angesehen [27) 28)].

Chemische Zusammensetzung:

Erst im vergangenen Jahr gelang es Rossmann, die Struktur der LDH aufzuklären. Damit wurde erstmals ein intrazellulär wirksames Enzym mit strukturellen Untereinheiten aufgeklärt, sofern man nicht Hämoglobin als Enzym betrachtet. Länger bekannt sind Molekulargewicht (ca. 135 000) und Aminosäurenzusammensetzung der LDH [13)].

Die Fraktionen 2, 3 und 4 werden als Hybridformen angesehen [14)], die sich aus verschiedenen Proportionen von Polypeptidketten der Fraktionen 1 und 5 zusammensetzen.
Es bilden sich bei Inkubation von reiner LDH 1 mit LDH 5 spontan die Fraktionen 2, 3 und 4 [69)].

Methodik:

Für die vorliegende Arbeit galt es, zunächst eine geeignete Methode zu finden. Das Angebot ist außerordentlich reichhaltig [30) 54)]. Es erhebt sich die Frage, welche Methoden den Besonderheiten der Klinik am ehesten gerecht werden. Eine Methode soll in erster Linie aussagekräftig, schnell und einfach ausführbar, möglichst aber auch wirtschaftlich sein.
Zur Differenzierung der LDH-Isoenzyme können herangezogen werden:

1. Die Trägerelektrophorese
2. Die Hitzeaktivierung
3. Die Cellulose-Adsorptionsmethode
4. Die Säulenchromatographie

und 5. Immunologische Methoden [31) 38)].

Es hat sich gezeigt, daß die verschiedenen Isoenzym-Bestimmungsmethoden unterschiedliche Ergebnisse liefern. Während die Enzymelektrophorese alle fünf Isoenzymfraktionen getrennt nachzuweisen erlaubt, gelingt es mit allen anderen Verfahren immer nur, aus dem Gesamtspektrum bestimmte Teile mehr oder weniger sicher abzutrennen.

Die Säulenchromatographie wird mit DEAE-Sephadex durchgeführt [34) 35)]. Sie erlaubt eine rasche Isolation ohne Verlust der Enzymaktivität, erscheint aber für umfangreichere Untersuchungen an zahlreichen Patienten zu aufwendig [15)].

Auch die Cellulose-Adsorptions-Methode erwies sich als zu aufwendig und bei normalen Isoenzym-Aktivitäten als zu wenig empfindlich [16)].

Als einfachsten Test für klinische Zwecke kann man die Hitzeinaktivierung bezeichnen, die auf der unterschiedlichen Thermolabilität der verschiedenen Fraktionen beruht [17) 33)]. Diese Methode wurde 1961 zuerst von Wróblewski und Gregory angegeben [50)]. Sie ist bisher von Dubach [51)], Wüst [52)] und Strandjard und Clayson [53)] für klinische Zwecke angewendet worden. Dieser Test eignet sich vor allem zur Herzdiagnose,

ist aber wegen der zu großen Empfindlichkeit der leberspezifischen Fraktion der LDH zur Leberdiagnostik nur bedingt brauchbar.

Die Trägerelektrophorese auf Papier ist zu zeitraubend, da sie über Nacht laufen muß. Auch die Stärkeblockelektrophorese dauert zu lange.

Als sehr elegante und wirtschaftliche Methode bot sich die Elektrophorese auf Celluloseacetatfolien mit Mikrophor-Boskamp an [18]. Leider erwies sich diese Methode als ungeeignet zur Erfassung niedrigerer Aktivitäten. Da die Auftragung der Serumprobe auf den Celluloseacetatstreifen mit einem Stempel erfolgt, ist die aufgetragene Probemenge gering.Für die nachfolgenden Untersuchungen war diese Methode deshalb nicht empfindlich genug. Außerdem erwies sich die Auswertung der Folien nach Elektrophorese und Färbung als problematisch. Zwar gelang es, die Folien mit einer Paraffinölmischung transparent zu machen, das schmierende Öl verhindert aber eine leichte Handhabung am Extinctionsschreiber sowie die nachfolgende Archivierung. Wir hätten ein spezielles Mikrozonendensitometer anschaffen müssen.

Bei der Agargel-Elektrophorese [36) 37) 39)] ist die passive Diffusion während der Trennung geringer als bei Papier - oder Celluloseacetatelektrophorese. Nach der Trennung mit anschließender Färbung können die einzelnen Fraktionen direkt densitometrisch bestimmt werden.

Die Beantwortung der oben gestellten Frage, welche Isoenzym-Differenzierungsmethode für klinische Zwecke optimal oder zumindest brauchbar ist, hat Gesichtspunkte pathophysiologischer wie methodischer Art zu berücksichtigen.

In erster Linie gilt es zu entscheiden, welche typischen Verschiebungen einzelner Isoenzyme oder Isoenzymgruppen unter den jeweiligen pathologischen Bedingungen auftreten.

Als zweites muß geprüft werden, welche Methodik die vorliegenden Veränderungen mit hinreichender Exaktheit erfaßt.

Aus den vorhergehenden Überlegungen und Untersuchungen zur Auswahl der Methodik ergab sich als Grundlage für die vorliegenden Untersuchungen die Agargel-Elektrophorese mit anschließender Färbung nach Knedel [20] ; das Verfahren mußte teilweise modifiziert werden.

Zunächst wurde versucht, die von Knedel in Anlehnung an die Van der Helm'sche Technik [21] vorgeschlagene Färbung zu vereinfachen.
Das Farbreagenz aus dem ISOFORM-LDH Reagenzien Set von DADE wurde mit nur 4 ml Färbepuffer gelöst und in einen Farbtrog nach Giemsa gegossen. Dann wurden auf Objektträgergröße zugeschnittene Filterpapierstreifen (Schleicher & Schüll Nr. 2043 b mgl) darin getränkt und auf die Agargel-Schicht aufgelegt, so daß ein "Papier-Agar-Sandwich" entstand. Die so vorbereiteten Objektträger werden 60 Minuten bei 37°C in einer feuchten Kammer inkubiert. Danach werden

die Agarplatten vorsichtig vom Färbepapier getrennt und ca. 20 Minuten in 2%iger Essigsäurelösung gewässert, da sonst die Puffersalze in der Agarschicht auskristallisieren und die entstehenden Eisblumenmuster die Auswertung stören. Anschließend verbleiben die Objektträger 15 Minuten in dem von Knedel angegebenen Fixierbad. Danach spült man sie noch einmal kurz mit Leitungswasser ab, legt eine Schicht mit Leitungswasser getränkten Filterpapiers auf und kann die Platten dann unter einem Föhn in etwa 50 Minuten trocknen. Danach sind sie zur Auswertung mit dem Extinktionsschreiber fertig.-

Bei dem Versuch die Konzentration und Menge der Farbstofflösung pro Objektträger zu erhöhen, wurde auch die Agar-Sandwich-Methode herangezogen. Dabei wird das Farbreagenz mit Agar vermischt, daraus Platten gegossen und diese auf die Objektträger aufgelegt. Beide Sandwichmethoden erwiesen sich als gut brauchbar bei der Bestimmung erhöhter LDH-Aktivitäten im Serum. Im Falle normaler Aktivität erwies sich die Empfindlichkeit dieser Methoden aber als nicht ausreichend, da jeweils größere Mengen an Enzymaktivität in die Färbeschicht des Sandwiches zu diffundieren scheinen. Es erscheint daher auch auf dem Färbepapier, bzw. - Gel, das Enzymbild seitenverkehrt.

Im allgemeinen werden Serumproben untersucht, die eine erhöhte Aktivität der Gesamt-LDH aufweisen. Da aber Fälle bekannt sind, bei denen die Aktivität der Gesamt-LDH im Serum völlig normal sein kann, das Verhältnis der Isoenzyme zueinander hingegen bereits pathologisch

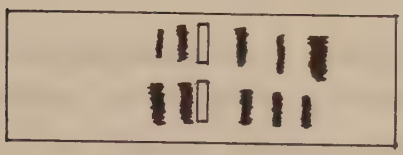
ist [22], wurde auf diese verhältnismäßig einfache Methode verzichtet. Es sei aber ausdrücklich erwähnt, daß sie bei erhöhter Aktivität der Gesamt-LDH recht gute Ergebnisse bringt.

Im folgenden seien noch einige Vorschläge aufgeführt, die die Vorbereitung der Objektträger zur Elektrophorese, die Trennung selbst, sowie die nachfolgende Färbung etwas vereinfachen sollen:

Vorbereitung der Objektträger:

Von dem möglichst frischen Serum werden jeweils 0,5 ml mit Marburg-Pipetten in Reagenzgefäße (Eppendorf 3810) pipettiert. (Es empfiehlt sich, vorher zu prüfen, ob die Reagenzgefäße dicht sind!)
Nach 5-minütigem Vorwärmen auf 42°C werden jeweils 300 µl Serum zu den Agarproben hinzugefügt, (s.Arbeit von Knedel) gemischt und dann am besten mit ebenfalls gut vorgewärmten Pasteurpipetten (short size 150 mm) vorsichtig in den Agarschlitz hineinpipettiert.

Hat man eine größere Zahl von Seren zu untersuchen, so kann man zwei Auftragungsschlitze nebeneinander ausstanzen und so jeweils zwei Proben pro Objektträger untersuchen. Außerdem ist es auf diese Weise möglich z.B. Patientenserum jeweils mit einem Standartserum zu vergleichen:



Elektrophoretische Trennung:

Bei der Elektrophorese selbst erwies sich die Kühlung mit dem Kühlblock Frigophor H von Boskamp bei einfachem Durchströmen mit Leitungswasser als ausreichend. Allerdings kann man bei höherer Leitungswassertemperatur nicht auf das Netzgerät Frigostat zur elektrischen Kühlung verzichten.

Färbung:

Bei der folgenden Färbung der aufgetrennten Serumproben erwies sich die von Knedel angegebene Lösung als zu lichtempfindlich. Daher mußte die Herstellung der Färbelösung modifiziert werden.

Zunächst wurde eine für etwa 10 Färbebäder ausreichende Menge Färbepuffer angesetzt:

10,869 g Na_2HPO_4
2,720 g KH_2PO_4 Lösung I
ad 900 ml aqua bidest.

Dieser Färbepuffer hat ein pH von 7,5 und ist 0,07 molar.- Im Gegensatz zu dem von Knedel angegebenen Puffer der einen

pH von 7,5 bei einer Molarität von etwa 0,14 hat, zeigten sich bei einer Variation des Färbepuffers in diesem Bereich die besten Ergebnisse. Bei Verschiebung des Puffer-pH in den alkalischen Bereich trat eine Verwischung der Banden sowie eine stärkere Background-Färbung auf, während bei niedrigerer Molarität und saurerem pH die Banden schärfer und der Background klarer waren.-

Dann folgt die Herstellung der Vorratlösung II :

17,15 g Milchsäure -Na
Salz ad 25 ml aqua bidest.
(Im Kühlschrank lösen und aufbewahren!)

Nun wiegt man in eine Lichtschutzflasche folgende Reagenzien ein :

EINWAAGE III :

50 mg NaCN
25 mg Nitro-Blue-Tetrazolium
100 mg $NADH_2$
2,5 mg Phenazinmethozulfat

Erst nachdem man die fertig vorbereiteten Objektträger in die Glasschale gelegt hat, die Agarschicht dann an den Rändern mit Menzel-Gläsern beschwert hat und das ganze dann in den Brutschrank gestellt hat, mischt man die reagenzfähige, sehr lichtempfindliche Färbelösung zusammen, indem man zur Einwaage (III) 90 ml der Vorratlösung (I) gibt und anschließend 1 ml der Vorratlösung (II) hinzupipettiert. Dieses Gemisch muß in der gut schließbaren Lichtschutzflasche kräftig

geschüttelt werden!
Also: III + I (90 ml) + II (1 ml)

Anschließend muß die Färbelösung unverzüglich vorsichtig in die Schale mit den Objektträgern gegossen werden. Dabei ist darauf zu achten, daß die Agarschicht sich möglichst nicht von den Gläsern löst und die Objektträger gut mit Flüssigkeit bedeckt sind. Die Färbezeit beträgt hier 50 Minuten bei 37°C.

Auswertung der Pherogramme:

Die Auswertung der fertig getrockneten Objektträger mit dem Extinktions-Integralschreiber von Zeiss bei 530 oder 600 nm (Filter: FE 53, FE: 54, FE: 60) erwies sich zunächst als problematisch, da sich eine sogenannte aufsteigende Basislinie nie ganz vermeiden läßt, selbst wenn der Background völlig klar erscheint. Wahrscheinlich zeigt die anodische Seite der Objektträger wegen der sich anfärbenden Puffersalze immer einen etwas erhöhten Leerwert.- Um die Pherogramme nun nicht alle mit dem Planimeter auswerten zu müssen , läßt man die Objektträger nun "umgekehrt", d.h. Fraktion 5 zuerst, am Meßschlitz vorbeiwandern. Daraus ergibt sich eine effektive Erhöhung der Fraktionen 1 und 2, die wegen der Vereinfachung der Messung gern toleriert wurde. Auch erwies sich dieses Verfahren als vorteilhaft zur genaueren Messung der Kathodennahen Fraktionen 3, 4 und 5.

Zur Erhöhung der Empfindlichkeit des Auswertgerätes kann bei einfacher Probenauftragung der Meßschlitz des Gerätes auf 10-12 mm vergrößert werden. Hat man eine größere Zahl von Seren zu untersuchen, so nimmt man bei zwei Proben pro Objektträger eine Meßschlitzbreite von 4-5 mm. Der kleinere Meßschlitz hat den Vorteil, daß auch bei unsauberer Probeauftragung ("Schmetterlingsbilder" nach Wieme) oft noch ein guter Meßbereich im Pherogramm gefunden werden kann.

Ergebnisse:

Tabelle 1 zeigt eine breite Streuung der LDH und ihrer Isoenzyme bei allen 23 gesunden Kontrollpersonen. Während die Transaminasen relativ konstante Werte ergaben (Mittelwert GOT: 6,6 $\pm$ 2,4; GPT: 6,4 $\pm$ 3,3) erreichte die Gesamt-LDH mit 196 mU/ml ihren Höchstwert bei einem Tiefstwert von 111 mU/ml (Mittelwert 162,7 mU/ml). Die Werte der LDH 1 bewegten sich zwischen 155 und 68,5 (Mittelwert 108,5). Eine ähnlich breite Streuung ergibt sich auch für die LDH 2 (16 bis 72,5; Mittelwert 44,25), für die LDH 3 (0-21; Mittelwert 6,75), für die LDH 4 (0-9; Mittelwert 1,97) und für die LDH 5 (0-5,7; Mittelwert 0,67) (siehe Abb. 1-5).

Aus einer derart breiten Streuung der Enzymaktivitäten ergibt sich einerseits, daß den LDH-Isoenzymen keine zuverlässige "screening-Bedeutung" (wie etwa der GPT) zu-

kommen kann, andererseits, daß die LDH und ihre Isoenzyme in ganz besonderem Maße Schwankungsfaktoren unterworfen zu sein scheinen.

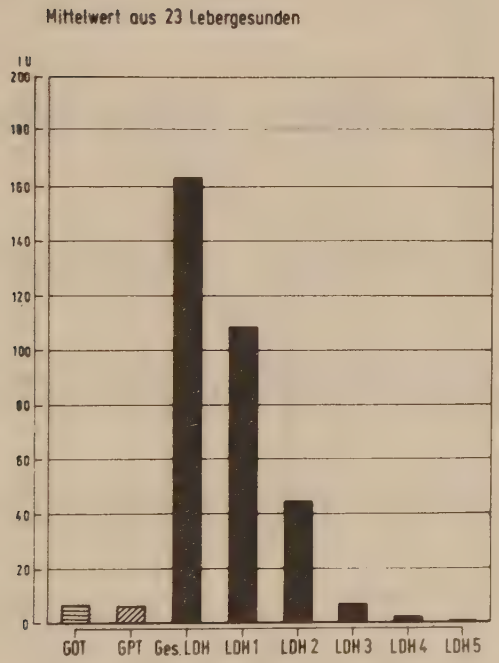


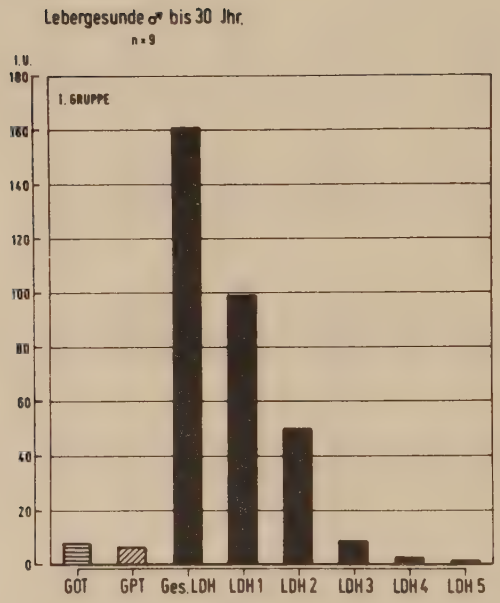
Tabelle 1

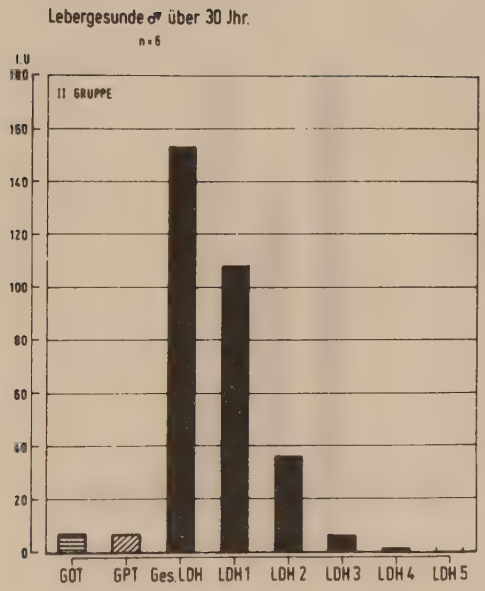
Lebergesunde

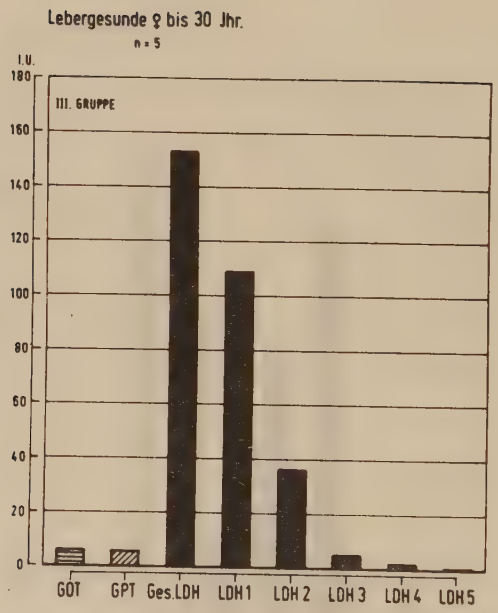
		GOT	GPT	LDH	LDH1	LDH2	LDH3	LDH4	LDH5
II.									
	1.	8,4	9,7	153	111	42	-	-	-
	2.	4,2	5,5	182	133	40	9	-	-
	3.	6,9	6,9	139	72,1	39	21	4,2	2,8
	4.	5,5	8,4	143	84,2	28,5	15,7	8,6	5,7
	5.	5,5	6,9	125	68,5	33,7	15	3,7	3,7
	6.	8,4	6,9	139	80	69	-	-	-
	7.	8,4	6,9	196	131	65	-	-	-
	8.	8,4	5,5	192	111	69	9,5	2,9	0,8
	9.	8,4	6,9	182	104	64	11	3,6	-
II.									
	1.	6,9	8,4	153	119	27,5	6,1	-	-
	2.	5,5	8,4	139	96	22,3	12,1	5,6	4,1
	3.	4,2	5,5	139	87,5	51,5	-	-	-
	4.	6,9	4,2	153	111	26	12	3	-
	5.	8,4	9,7	196	155	41	-	-	-
	6.	6,9	8,4	139	80	50	9	-	-
III.									
	1.	6,9	5,5	167	126	33,5	6,5	-	-
	2.	6,9	4,2	196	131	62	3,5	-	-
	3.	6,9	5,5	111	95	16	-	-	-
	4.	5,5	5,5	125	85	17,5	10	9	3,5
	5.	4,2	5,5	167	108	53	6	-	-
IV.									
	1.	5,5	6,9	187	144	43	-	-	-
	2.	5,8	8,4	196	96	72,5	21	5,9	-
	3.	6,9	5,5	167	115	52	-	-	-

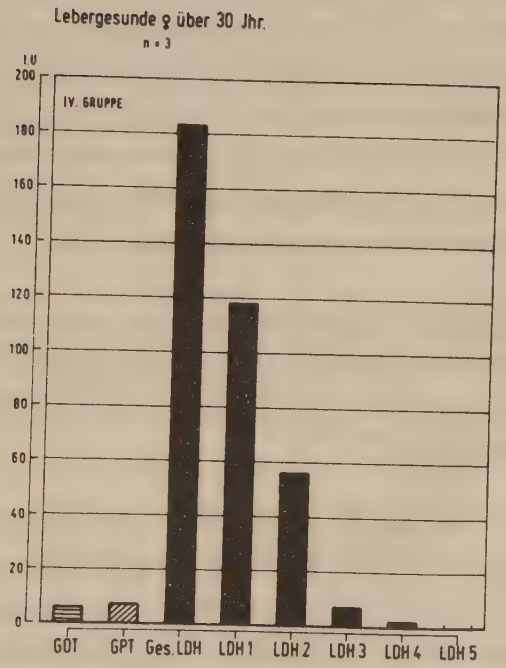
Insgesamt wurden 252 Serumproben von 80 Personen untersucht

		GOT	GPT	Ges.LDH	LDH1	LDH2	LDH3	LDH4	LDH5
I.	Lebergesunde Männer bis 30 J. (n=9)	7,6	6,6	161,2	99,3	50,0	9,0	2,6	1,55
II.	Lebergesunde Männer über 30 J.(n=6)	6,9	6,9	153,1	108,0	36,1	6,5	1,5	0,6
III.	Lebergesunde Frauen bis 30 J. (n=5)	6,0	5,2	153,2	109,0	36,0	5,0	1,8	0,6
IV.	Lebergesunde Frauen über 30 J. (n=3)	6,1	6,9	183,3	118,3	55,6	7,0	2,0	0,0
23	Mittelwert aus Lebergesunden n = 23	6,6	6,4	162,7	108,5	44,25	6,75	1,97	0,67


Lebergesunde ♂ bis 30 Jhr.
n = 9
I.U.
180
160
140
120
100
80
60
40
20
0
I. GRUPPE
GOT
GPT
Ges.LDH
LDH 1
LDH 2
LDH 3
LDH 4
LDH 5


Lebergesunde ♂ über 30 Jhr.
n = 6
I.U
II GRUPPE
160
140
120
100
80
60
40
20
0
GOT
GPT
Ges.LDH
LDH 1
LDH 2
LDH 3
LDH 4
LDH 5


Lebergesunde ♀ bis 30 Jhr.
n = 5
I.U.
180
160
140
120
100
80
60
40
20
0
III. GRUPPE
GOT
GPT
Ges.LDH
LDH 1
LDH 2
LDH 3
LDH 4
LDH 5


Lebergesunde ♀ über 30 Jhr.
n = 3
I.U
200
180
160
140
120
100
80
60
40
20
0
IV. GRUPPE
GOT
GPT
Ges.LDH
LDH 1
LDH 2
LDH 3
LDH 4
LDH 5

Auf Grund der Lokalisation der Enzyme innerhalb der Kompartimente der Zellen, zum Beispiel in den Mitochondrien oder im Cytoplasma, der Austrittsrate (abhängig vom Molekulargewicht) bei Zellschäden, der Halbwertszeit in vivo (und ganz besonders auch in vitro) sowie durch den Einfluß von möglichen Aktivatoren oder Inhibitoren wird das im Blut gemessene Enzymmuster verändert. Besonders bei der Beurteilung der Bedeutung LDH sind zahlreiche Faktoren ungeklärt. So findet man zum Beispiel bei unkomplizierter akuter Hepatitis im Vergleich zur hohen Konzentration in den Leberparenchymzellen relativ wenig LDH-Aktivität im Serum, während zahlreiche schwere Vergiftungen mit ausgedehnten Leberzellnekrosen besonders ausgeprägte LDH-Aktivitätserhöhungen im Serum hervorrufen [79].

Zur Auffindung von eventuellen physiologischen Varianten wurden die Lebergesunden in vier Gruppen aufgeteilt. Dabei ergab sich zwischen den weiblichen und männlichen Gruppen kein Unterschied [55) 56)].

Bei allen Personen wurde das Blut zwar morgens nüchtern entnommen und anschließend sofort zentrifugiert, es muß jedoch eine unterschiedliche körperliche Aktivität der einzelnen Probanden einkalkuliert werden (z.B. durch unterschiedlichen Anmarschweg zur Klinik) wodurch der Serumspiegel zahlreicher Enzyme beeinflußt wird.

Auch zwischen den unterschiedlichen Altersgruppen ergab sich kein auffallender Unterschied in der Isoenzymverteilung (siehe dazu die Untersuchungen von Solbach und Merten [62]).

Ein nicht zu unterschätzender Faktor bedeutet der Aktivitätsverlust besonders der kathodennahen Fraktionen nach Gewinnung des Serums. Über die Halbwertzeit in vivo und in vitro sowie über die Clearance liegen unterschiedliche Mitteilungen vor.

Stein [57] fand zum Beispiel für LDH 1 und 2 eine Halbwertzeit (T 1/2) von 135 Stunden und für LDH 5 von 2,7 Stunden im Serum. In vitro blieb LDH 5 bei 39°C über sechs Stunden stabil, ein Ergebnis, das Vesell und Mitarbeiter [6] nicht bestätigen konnten.

Wakim [58] und Mahey [59] erarbeiteten Hinweise auf eine reticuloendotheliale Clearance der kathodennahen Enzyme; außerdem sei der Aktivitätsverlust vor allem des LDH 5-Isoenzyms auf seine größere Empfindlichkeit gegenüber thermischen und chemischen Noxen zurückzuführen [61] . Eine weitere Erklärung für die inkonstanten Aktivitäten der Isoenzyme scheint das Phänomen der Rekombination zu sein: Es gibt Hinweise dafür, daß die Isoenzymverteilung durch die Prozedur der Färbung und der damit verbundenen Inkubation mit einer NADH-haltigen Lösung durch eine unkontrollierte Rekombination der Untereinheiten der LDH gemäß ihrer Hybridnatur verzerrt wird [69] .

Der Mechanismus der Enzymausschüttung ist weitgehend unbekannt [63] . Man diskutiert verschiedene Faktoren, die zum Teil synergistisch die Höhe des jeweiligen Serumspiegels eines Enzyms bedingen. Im allgemeinen können schon geringfügige Störungen der Energieversorgung zu einer Durchlässig-

keit der Zellmembran führen. Da aber immer eine gewisse Menge Poren in jeder Zellmembran nachgewiesen werden kann, ist vielleicht auch eine Aufhebung der intrazellulären Proteinbindung bzw. eine Zerstörung etwaiger Enzymkomplexe als Primärphase denkbar [64].

Übersicht über die Patientengruppen:

In Tabelle 2 sind die Leberkranken Patienten zusammengestellt:

Tabelle 2:

Art der Krankheit	Zahl der untersuchten Seren
Ausgeheilte Hepatitis	17
Extrahepatischer Verschluß	9
Chron. toxischer Leberschaden	17
Akute Virushepatitis	106
Chronische Hepatitis oder Cirrhose mit ausgeprägter Aktivität	41
Chronische Hepatitis oder Cirrhose mit mäßiger Aktivität	38
Gesamt :	228

Alle Angaben der Enzym-Aktivitäten erfolgen in mU (1/1oooU), bezogen auf ein ml.

Eine "Internationale Enzym-Einheit" (I.U.) ist die Enzymmenge, die bei 25°C den Umsatz von 1 Mikromol Substrat in einer Minute bewirkt.

Alle Diagnosen wurden durch Leberbiopsie kontrolliert

Ausgeheilte Hepatitis: (Tabelle 3)

Die vier Patienten mit klinisch und histologisch ausgeheilter Hepatitis boten fast alle gering erhöhte Aktivitäten der Transaminasen sowie der LDH und ihrer Isoenzyme. Auch bei leicht erhöhter Gesamt-LDH zeigte sich das Isoenzymbild ausgesprochen uncharakteristisch.
(siehe dazu Säulendiagramm:
(Abb.6)

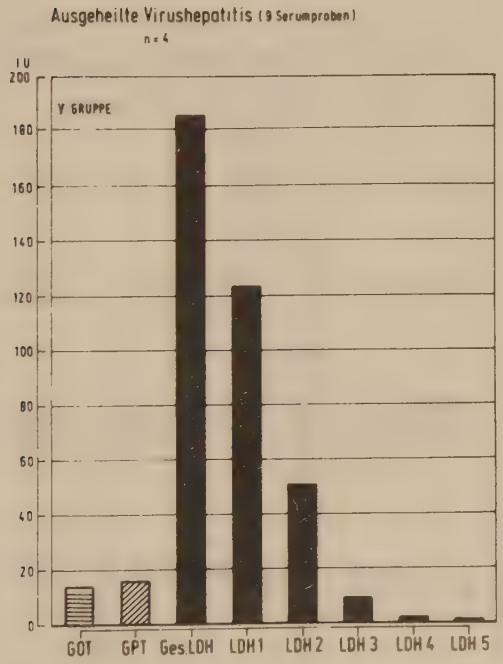


Tabelle 3

V. Ausgeheilte Hepatitis

Tag	Ges.LDH	LDH1	LDH2	LDH3	LDH4	LDH5	GOT	GPT	Cháse	THY	alk.Pâse
	D. Marianne, 35 J. Pat. Nr. 10										
1.	211	160	40	13	-	-	13,9	16,8	70	4,8	
10.	211	163	48	-	-	-	12,5	16,8	62		
15.	196	163	33	-	-	-	15,4	13,9			
29.	196	134	51	16	-	-	13,9	21,2			
43.	196	149	37	8	2	-	8,4	12,5			
56.	139	107	25	4	3	-	8,4	8,4			
	S. Margarete, 52 J. Pat. Nr. 17										
1.	182	94	49	23,6	9,1	5,5	11,1	8,4	155	3,5	
8.	211	127	74	6,3	2,1	2,1	15,4	12,5			
13.	196	100	92	4	-	-	15,4	13,9			
20.	196	94	90	12	-	-	12,5	13,9			
28.	182	121	44	11	3,5	2	12,5	9,7			
44.	196	118	59	8	2	10	13,9	9,7			
62.	187	132	47	7	-	-	9,7	9,7			
	W. Karl, 49 J. Pat. Nr. 28										
1.	196	135	41,5	19,5	-	-	9,7	8,4			
11.	153	107	31	10	4,6	-	6,9	6,9			
42.	182	124	53	5,5	-	-	5,5	6,9			
	St. Werner, 30 J. Pat. Nr. 49										
1.	139	67	42	17	8,5	5,5	6,9	6,9			
	Mittelwerte:										
V. Ausgeheilte Hepatitis 17 Serumproben (n = 4)			13,8	15,6	186,3		123,2	50,6	9,7	2,0	1,4

Extrahepatischer Verschluß: (Tabelle 4)

Alle 3 Patienten mit extrahepatischer Verschluß-Symptomatik und mäßig erhöhten Transaminasen zeigten bei etwas erhöhter Gesamt-LDH ein unauffälliges Isoenzymbild. Dieses Ergebnis stimmt mit den Arbeiten von Trujillo et al [70] überein, die bei vier Patienten mit extrahepatischem Verschluß und teilweise massiv erhöhten Transaminasen auch nur eine minimale Zunahme der Aktivität der Gesamt-LDH sowie der LDH 5 verzeichnen konnten. Bardawill und Chang [74] bestätigen diesen Befund für die Gesamt-LDH. Auch Wróblewski und Gregory 76) fanden bei sechs Patienten mit Verschluß in keinem Fall eine Erhöhung der Gesamt-LDH oder LDH 5, in zwei Fällen allerdings eine Aktivitätszunahme der LDH 3, die in den vorliegenden Untersuchungen nicht beobachtet wurde (Abb.7)

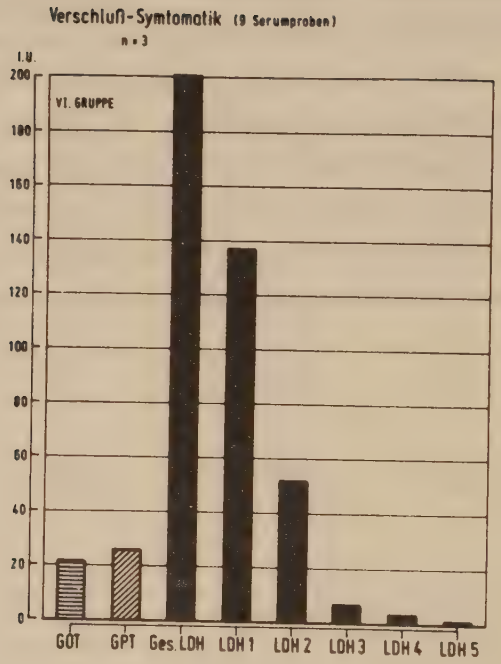

Verschluß-Symtomatik (9 Serumproben)
n = 3
I.U.
200
180
160
140
120
100
80
60
40
20
0
VI. GRUPPE
GOT
GPT
Ges. LDH
LDH 1
LDH 2
LDH 3
LDH 4
LDH 5

Tabelle 4

Extrahepatischer Verschluß

V. Wassiliki, 25 J. Pat. Nr. 67

Tag	Ges.LDH	LDH1	LDH2	LDH3	LDH4	LDH5	GOT	GPT	Cháse	THY	Alk.P'ase
1.	211	144	63	-	-	4	55,3	61,7	62	11	360
2.	211	190	21	-	-	-	45,6	49,9			
7.	211	160	34	10,5	6,5	-	15,4	13,9			
P. Karl, 51 J. Pat. Nr. 51											
1.	167	100	58	9	-	-	6,9	11,1			
B. Roman, 55 J. Pat. Nr. 65											
1.	226	147	74,5	4,5	-	-	27,2	36,8	70	2,2	114
5.	211	114	65	17	11	4	11,1	18,3	46	2,9	
8.	196	143	53	-	-	-	9,7	11,1			
12.	196	120	45	14	14	4	11,1	11,1			
19.	182	120	55	7	-	-	12,5	13,9			
Mittelwerte:											
VI. Verschluß - Symptomatik 9 Serumproben (n = 3)			21,6	25,3		201	137,5	52,0	7	3,5	1,3

Tabelle 5

Chron. toxischer Leberschaden (Fettleber):

In 17 Seren von Patienten mit toxischer Leberschädigung fanden sich nur leicht erhöhte Transaminasen (besonders leicht erhöhte Aktivität der GPT) bei völlig normaler Gesamt-LDH und minimal erhöhter LDH 5. Auffallend waren die konstanten Befunde über einen längeren Zeitraum (Abb. 8)

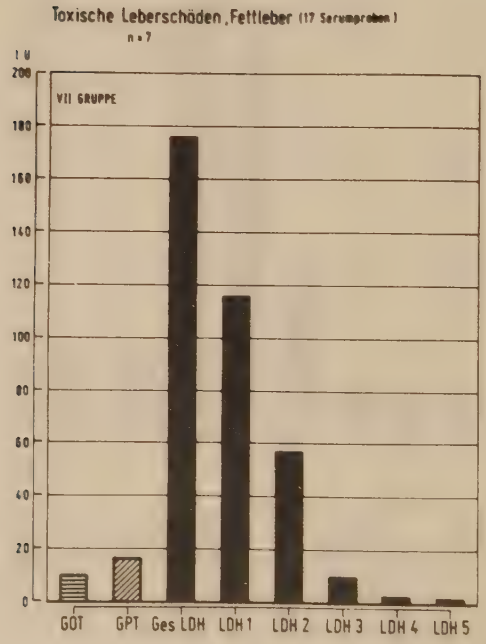


Tabelle 5

Toxischer Leberschaden (Fettleber)

St. Klaus, 45 J. Pat. Nr. 73

Tag	Ges.LDH	LDH1	LDH2	LDH3	LDH4	LDH5	GOT	GPT	Ch'ase	THY	alk.P'ase
1.	182	104	56	18	4	-	8,4	6,9			

Ko. Alois, 62 J. Pat. Nr. 72

1.	153	106	40	4	1,5	1,5	4,2	5,5			

St. Franziska, 42 J. Pat. Nr. 80

1.	196	98	71	18	6	4	19,7	22,5			

R. Karl, 59 J. Pat. Nr. 19

1.	153	102	43	7,7	-	-	11,1	16,8			42
11.	153	112	41	-	-	-	6,9	9,7	51	1,6	
18.	167	110	45	6,5	-	5	9,7	8,4	60		37
25.	167	112	40	8	5	-	6,9	8,4	82	1,5	40
39.	182	127	36,5	11	5,5	2	11,1	8,4			
52.	167	132	25	5	3	1,7	9,7	6,9			

Toxischer Leberschaden (Fettleber)

Ki. Anita, 46 J. Pat. Nr. 31

Tag	Ges.LDH	LDH1	LDH2	LDH3	LDH4	LDH5	GOT	GPT	Ch'ase	THY	alk.P'ase
1.	211	148	48,5	8,5	4,2	2	11,1	45,6			
8.	182	113	57	9	5,5	-	8,4	14			

Sto. Franz, 51 J. Pat. Nr. 78

1.	167	83,5	53,5	21,8	5,2	3,4	11,1	13,9	128	2,3	
8.	196	110	59	15,6	5,9	5,9	6,9	5,5	145	5,35	
11.	182	127	45,5	9,2	-	-	8,4	5,5			
18.	167	120	33,5	8,5	-	5	8,4	6,9			
35.	167	125	32	10	-	-	8,4	5,5			

Mittelwert:

VII. Toxischer Leberschaden (Fettleber) (n = 7)	9,9	16,2	176	116	57	10	2,5	2,2	

Akute Virushepatitis

(s.Tabelle 6)

Bei 20 Patienten mit histologisch und biochemisch gesicherter akuter Virushepatitis wurden die Serum-Aktivitäten der LDH und ihrer Isoenzyme über einen Zeitraum von 68 Tagen wiederholt untersucht.

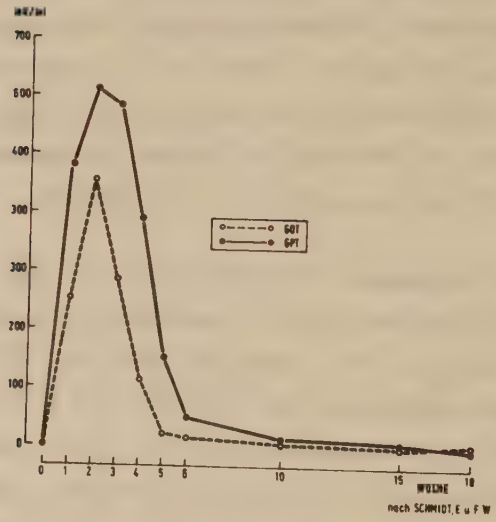
Die einzelnen Fälle wurden nach der Höhe der Aktivität der GPT bei der jeweils ersten Untersuchung zeitlich geordnet. Entsprechend dem normalen Aktivitätsverlauf der Transaminasen bei unkomplizierter Virushepatitis (Abb.9). Auf diese Weise ist es möglich die einzelnen Verläufe zu koordinieren und man erreicht eine bessere Vergleichbarkeit. In Abbildung 10 sind die gefundenen Werte im Verlauf der akuten Hepatitis eingetragen.

Da erfahrungsgemäß die akute Hepatitis mit ihrem in der praeikterischen Phase oft uncharakteristischen Beschwerdebild außerhalb von Epidemien auch wenn sie im weiteren Verlauf anikterisch oder subikterisch verläuft, meist relativ spät diagnostiziert wird, wurde auch bei den vorliegenden Untersuchungen der größte Teil der Patienten erst hospitalisiert, als die Enzym-Aktivitäten längst ihren Höhepunkt überschritten hatten.

Bei vier Patienten wurden LDH 5 Werte von weit über 100 mU gefunden bei einer Gesamt-LDH von über 400 und Transaminasen um 500, entsprechend einer Hepatitis in den ersten drei Wochen des akuten Verlaufs. Alle vier zeigten innerhalb

Abb. 9

Enzym-aktivitäten im Verlauf der akuten Hepatitis



nach SCHMIDT, E. u. F. W.

des üblichen zeitlichen Heilverlaufs eine völlig normal rasche Abheilung mit schließlich restloser Normalisierung aller Laborwerte.

In 7 Fällen kam es bei einer LDH 5-Aktivität zwischen 32 und 100 etwas zögernd zur Ausheilung, wobei in zwei Fällen eine akute Exacerbation auftrat. Besonders diese beiden Fälle machten deutlich, daß die GPT das wesentlich empfindlichere Enzym zur Beurteilung eines frischen Leberzellschadens darstellt.

Die restlichen 9 Fälle wurden entweder relativ spät erfaßt (7 Patienten) oder zeigten trotz eindeutiger Transaminasenerhöhung keine pathologischen Werte des leberspezifischen Isoenzyms. Diese Erscheinung könnte man damit erklären, daß der initiale massive Anstieg des LDH 5 Isoenzym nicht mehr erfaßt wurde und die nachfolgende Neusyntheserate nicht ausreichend war, um einen meßbaren Serumspiegel zu erreichen. Dabei müßte dann der Aktivitätsgipfel in diesen Fällen besonders hoch gelegen haben.

In einigen Fällen scheint die Aussagekraft der LDH 5-Aktivität durch die Mitberücksichtigung der LDH 3-Fraktion verstärkt zu werden: Ist die LDH 5 leicht erhöht, aber noch nicht eindeutig im pathologischen Bereich, so kann oft die Fraktion 3 zur Beurteilung herangezogen werden, da sie die zweitstärkste Fraktion im Isoenzymmuster der Leber ist.- Diese Verbesserung der diagnostischen Aussagekraft der Auftrennung der Isoenzyme der LDH ist nur mit den elektrophoretischen Methoden möglich (s.Methoden).-

Die isolierte Beurteilung der LDH 3-Aktivität ist allerdings von fraglichem Wert, da sich selbst in der gesunden Kontrollgruppe Werte bis 21 fanden (normal bis 9 mU!)

Wie oben erwähnt zeigte sich, daß bei Rezidiven, die LDH 5 meist etwa parallel zur Gesamt-LDH und zu den Transaminasen ansteigt, sich jedoch wesentlich rascher wieder normalisiert. Diese Tatsache weist besonders die GPT als das empfindlichere Enzym aus.

Schon 1961 machten Wieme und Van Maercke bei Affen und Ratten die Beobachtung, daß nach Applikation einer lebertoxischen Substanz die LDH 5 initial stark anstieg, dann aber trotz andauernder Zufuhr des toxischen Präparats in unveränderter Dosierung und histologisch nachweisbaren frischen Nekrosen relativ rasch zur Norm zurückkehrt. Wieme erklärt diese Erscheinung mit einem initialen Leerlaufen der Zellen und anschließender unzureichender Syntheserate des Enzyms (im Sinne einer vorwiegenden Schädigung der synthetisierenden Organellen), das bei fortlaufender Schädigung eine "Antwort" unmöglich mache [72]. Eine Hypothese, die auch in den vorliegenden Untersuchungen in vielen Fällen die Diskrepanz zwischen Transaminasenaktivität und Aktivität der LDH 5 im Serum erklären könnte.

Zimmermann [73] hält die LDH für so unempfindlich bei Leberparenchymnekrosen, daß er ihre Bestimmung eigentlich nur bei neoplastischen Prozessen der Leber für bedeutsam hält. Diese Mitteilung steht im Gegensatz zu eigenen Beobachtungen,

wonach die höchsten Gesamt-LDH-Aktivitäten bei Leberparenchymnekrose, z.B. infolge einer Hypoxie oder einer Amanita phalloides Vergiftung gefunden wurden.

Maier [66] fand bei sechs sorgfältig ausgesuchten Fällen von akuter Virushepatitis bei Verlaufsbeobachtungen über einen Zeitraum bis zu 25 Tagen nach Auftreten des Ikterus, daß nur zu Beginn der Erkrankung eine kurzfristige Erhöhung der LDH- Gesamtkonzentration im Serum zu verzeichnen ist, während die leberspezifische Untereinheit während des gesamten Beobachtungszeitraumes hochsignifikant erhöht sei, bei gleichzeitiger Erniedrigung der Herz-Fraktion des Enzyms.

Diese Befunde stehen im Gegensatz zu den vorliegenden Untersuchungen, bei denen sich nur im Ausnahmefall eine erhöhte LDH 5 bei normaler Aktivität der Gesamt-LDH fand. Der Grund dafür dürfte wohl vor allem in der Auswahl der Patienten sowie der Methodik liegen.

Ähnliches gilt für die Ergebnisse von Baklanova und Markelor [68].

Truyillo [70] und Mitarbeiter fanden bei 4 Patienten mit akuter Hepatitis übereinstimmende Erhöhungen der Transaminasen, der Gesamt-LDH und der LDH 5, was den vorliegenden Untersuchungen entspricht.

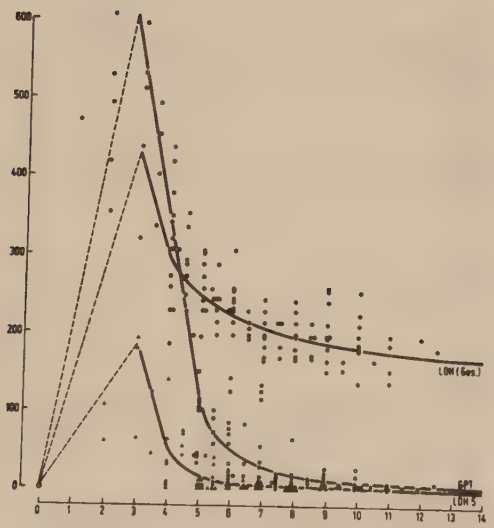
Neumeister, Otto und Schmidt [75] ermittelten mit Hilfe der DEAE-Sephadex-Adsorptionsmethode einen wesentlich höheren Anteil leberspezifischer LDH bei 19 gesunden Kontrollpersonen.

Entsprechend höhere Werte ergeben sich für die akute Hepatitis und für chronische Leberkrankheiten. Bei der Adsorptionsmethode werden aber (wie oben erwähnt) nur die schnell wandernden Fraktionen erfaßt, so daß die intermediären Formen je nach pH und Puffermolarität unentdeckt bleiben. Letzteres dürfte auch die abweichenden Ergebnisse von Rettenbacher-Däubner und Rieder [76] erklären. Eine praktische Übersicht über einzelne Methoden und ihre Vergleichbarkeit stellt die Arbeit von Wüst und Thuss [77] dar.

In der vorliegenden Arbeit sollten vor allem Fälle erfaßt werden, bei denen eine normale Gesamt-LDH-Aktivität oder eine leichte Erhöhung der LDH ein scheinbar normales Enzym-Profil ergibt, während die elektrophoretische Trennung dann eine maskierte Disproportionierung der Isoenzyme aufdeckt. Dies ist nur in einem Fall eindeutig gelungen (s.unten).
Andere Methoden der Enzymauftrennung sind in den unteren Bereichen nicht empfindlich genug, so daß Wüst [78] zum Beispiel nur eine Fraktionierung der pathologisch erhöhten Gesamt-LDH für diagnostisch sinnvoll hält.

Abb. 10

ENZYM-AKTIVITATEN IM SERUM IM VERLAUF DER AKUTEN VIRUSHEPATITIS BEIM MENSCHEN
(n=20)



Akute Virushepatitis

(geordnet nach ungefährem Stadium der Krankheit) Angaben in internationalen Einheiten.

T. Ermstin, 30 J. Pat. Nr. 11

Tag	Ges.LDH	LDH1	LDH2	LDH3	LDH4	LDH5	GOT	GPT	Ch'ase	THY	alk.P'ase
1.	419	188	62,8	31,4	29,4	106	352	533	60	4,6	93
8.	437	136	74	35	-	192	494	595	43	7,15	74
16.	256	161	64	-	-	-	242	304	50	4,85	
23.	226	163	54	9	-	-	17	44	60	3,2	
31.	196	146	43	4	-	-	12,5	13,9	95	4,3	
38.	196	166	30	-	-	-	8,4	8,4	76	3,2	
47.	167	135	32	-	-	-	8,4	8,4	90	2,1	
53.	153	122	31	-	-	-	5,5	4,2			

S. Rudolf, 16 J. Pat. Nr. 40

1.	419	176	59	2	4	178	574	513	28	10,4	95
8.	271	168	81	14	-	8	125	183	27	5,4	
15.	182	120	47	9	3,6	1,8	55	42	50	4,6	
18.	211	118	63	17	8,5	4,2	15,4	18,3	44	4,6	
27.	182	146	36	-	-	-	9,7	8,4	64	2,3	
34.	163	114	37,5	2	1,5	2	5,5	5,5	88	3,0	

G. Veronika, 26 J. Pat. Nr. 47

1.	351	176	99	10	7	60	352	494	56	13	60
5.	318	188	64	3	-	64	403	533	62	14,8	
12.	226	88	70	21	13,5	34	212	257	60	11,4	
18.	226	186	40	-	-	-	51,3	31,9	82	7,9	
23.	241	150	51	14,5	5	21,5	137	76,5	100	11,4	
27.	241	152	48	12	12	17	154	183			
30.	256	177	59	-	-	20,5	139	168			
34.	256	164	73	15	-	5	131,5	137			

N. Margarete, 58 J. Pat. Nr. 24

Tag	Ges.LDH	LDH 1	LDH 2	LDH 3	LDH 4	LDH 5	GOT	GPT	Ch'ase	THY	a.P'ase
1.	334	167	124	–	–	43	456	494	110		82
10.	271	119	133	8	–	11	197	183	155	20,8	78
17.	241	130	91	9,5	2,5	7	68,7	59,5	122	4,8	
24.	167	108	41	10	3	3	28,8	27,2	145	3,2	
31.	196	144	52	–	–	–	13,9	19,7	128	5,0	
39.	167	100	50	8,5	1,5	6,5	11,1	13,9	145	4,9	
34.	196	151	45	–	–	–	8,4	8,4			
43.	153	89	47	11	4,5	1,5	5,5	6,9			

L. Josef, 58 J. Pat. Nr. 20

1.	401	181	96,5	–	–	124	663	456	33	8,8	160
5.	351	172	106	–	–	74	617	335		11,8	
18.	196	155	41	–	–	–	11,1	15,4	22	3,6	52
24.	167	136	25	5	–	–	9,7	8,4	42	2,9	
33.	167	132	29	–	–	–	6,9	9,7	38		53
40.	196	108	63	16	2	8	6,9	5,5	40	3,0	
48.	182	133	45	3,5	–	–	4,2	4,2			
52.	139	102	30,5	5,5	1,4	–	4,2	4,2			

T. Visnja, Pat. Nr. 22

1.	318	168	67	15,9	3,2	63,5	494	352	38	4,85	77
7.	226	181	45	–	–	–	31,9	101,1	49	2,0	
14.	196	155	31	10	–	–	8,4	17	49	1,6	
22.	182	148	34	–	–	–	8,4	15,4	62	1,8	
31.	182	138	36	8	–	–	9,7	8,4	54		
38.	241	193	29	5	–	15	368	257	46	1,7	
45.	211	129	59	15	6	2	24,2	25,7		3,3	
50.	196	165	25,5	6	–	–	8,4	8,4			
61.	196	151	37	8	–	–	6,9	5,5			

Gl. Antonie, 80 J. Pat. Nr. 68

Tag	Ges.LDH	LDH 1	LDH 2	LDH 3	LDH 4	LDH 5	GOT	GPT	Ch'ase	THY	alk.P'ase
1.	304	176	73	9	6	4	456	272	54	6,1	73
8.	196	118	69	8	-	12	227	242			
14.	226	158	56,5	7	2,3	2,3	69	8,4			

Sch. Luise, 49 J. Pat. Nr. 42

1.	437	166	131	-	-	140	617	420	62		
7.	256	128	77	8	-	43,5	403	304	88	14,8	137
11.	256	144	59	20	10	23	168	227	88	12,5	
18.	226	140	65	5	-	6,5	53,3	84,7	115	18,9	
28.	211	140	63,5	4	2	2	15,4	21,2	105	9,7	
33.	196	131	45	12	-	8	14	15,4			
40.	139	124	15	-	-	-	8,4	8,4			
46.	153	98	40	11	3	1,5	6,9	6,9			

K. Jakob, 26 J. Pat. Nr. 35

1.	351	242	109	-	-	-	97	352	49	11,8	88
10.	256	123	133	-	-	-	11	42	70	10,8	
14.	226	154	50	11	7	4,5	11,2	21,1	82	10,7	
21.	196	127	59	10	-	-	11,1	16,8	82	9,3	
29.	196	141	55	-	-	-	9,7	15,4	96		
35.	182	147	45	-	-	-	8,4	13,9	96		
41.	196	118	67	8	4	-	11,1	11,1			
49.	187	131	56	-	-	-	6,9	8,4			

Gm. Adelheid, 72 J. Pat. Nr. 81

1.	226	124	65	4,5	-	32	368	386			

Virushepatitis IV

K. Ernst, 24 J. Pat. Nr. 48

Tag	Ges.LDH	LDH 1	LDH 2	LDH 3	LDH 4	LDH 5	GOT	GPT	Ch'ase	THY	a.P'ase
1.	287	127	63	31,5	26	43	154	242			
4.	196	67	65	14	10	41	84	125			
11.	196	98	97	20	8	12	84	125			

Sch.-L. Ida, 61 J. Pat. Nr. 56

1.	291	96	99	12	12	73	242	227			
7.	241	193	41	5	-	2,5	45,6	71,1			
28.	196	112	68	16	-	-	9,7	9,7			

Br. Fritz, 23 J. Pat. Nr. 77

1.	241	111	68	7	-	55	257	272			
6.	256	148	56	15	5	31	272	288			

R. Ludwig, 36 J. Pat. Nr. 41

1.	287	209	78	-	-	-	33,5	112	51	17,1	63
7.	226	100	91	14	7	16	42	59	88	6,3	
14.	211	144	67	-	-	-	35,2	57,4	88	4,5	51
27.	167	134	25	6,7	-	1,7	11,1	16,8	96	4,5	
32.	196	143	33	10	4	6	9,7	15,4	100	2,8	
39.	226	95	113	14	4,5	-	15,4	16,8			

S. Wolfgang, 20 J. Pat. Nr. 75

1.	241	164	58	7	2,5	10	112	103			
7.	226	167	52	7	-	-	27,2	30,4			

Akute Virushepatitis V

Mü. Erwin, 43 J. Pat. Nr. 9

Tag	Ges.LDH	LDH 1	LDH 2	LDH 3	LDH 4	LDH 5	GOT	GPT	Ch'ase	THY	a.P'ase
1.	302	202	54,5	15,1	6,3	2,4	79	112	145	5,2	
5.	211	129	61,5	-	-	21	93,5	142,5	115	14,8	
8.	153	79	61	9,2	1,5	10,2	73,7	117,2			
12.	226	151	75	-	-	-	28,8	66,3	148	18,2	
16.	211	135	76	-	-	-	11,1	27,2			
30.	182	133	42	3,5	1,8	1,8	9,7	6,9			
	S. Foad, 43 J. Pat. Nr. 60										
1.	241	186	48	2,4	-	5	33,5	97,7	105		60
8.	211	135	57	13	4	1	13,9	30,4	115	8,4	
14.	211	143	59	8	-	-	15,4	16,8			
22.	167	128	39	-	-	-	9,7	11,1			
	D. Stefan, 27 J. Pat. Nr. 55										
1.	211	101	70	17	8,5	14,5	43,8	90,8			
	Re. Maria, 51 J. Pat. Nr. 6										
1.	241	176	33,7	16,8	7,2	7,2	27,2	55,3	105	6,3	
8.	196	150	46	-	-	-	6,9	16,8	96	6,3	
20.	211	184	37	-	-	-	9,7	13,9			
27.	196	114	79	10	-	4	12,5	15,4			
38.	167	101	55	6,7	3,3	-	8,4	8,4			
68.	167	90	60	10	5	1,7	6,9	6,9			

Virushepatitis VI

D. Charles, 34 J. Pat. Nr. 39

Tag	Ges.LDH	LDH 1	LDH 2	LDH 3	LDH 4	LDH 5	GOT	GPT	Ch'ase	THY	a.P'ase
1.	226	128	98	–	–	–	16,8	73,7			
8.	226	158	68	–	–	–	8,4	21			
14.	182	80	80	13	3,5	5,5	9,7	12,5			
21.	211	146	59	–	–	6	6,9	8,4			
29.	153	110	35	8	–	–	6,9	8,4			
49.	182	120	51	7	2	2	9,7	8,4			

Chronische Hepatitis oder Cirrhose mit ausgeprägter Aktivität (Abb. 11) Tabelle 7 .

Bei diesen neun Patienten stimmte die histologische Diagnose nicht immer mit der "Fermentdiagnose" überein [80) 81)] Tabelle 7). Ein Hinweis darauf, daß(mesenchymale) entzündliche Aktivität und Leber-Zellschädigung (epithelialer Anteil) nicht parallel gehen.

Es fand sich in zwei Fällen ein Aufstieg der GOT über 400 wie man ihn u.a. bei der akuten Hepatitis findet, wobei die Gesamt-LDH und die LDH 5 stark erhöht waren, während die Fraktionen 1, 2, 3 und 4 unauffällig blieben. In diesen beiden Fällen lag der da Ritis Quotient (GOT/GPT) weit über 2 mit entsprechend schlechter Prognose [71)].

Bei sechs Patienten mit einer Transaminasen-Aktivität unter hundert, zeigte sich in fünf Fällen eine vorübergehende deutliche Erhöhung der Gesamt-LDH sowie der LDH 5, die allerdings in keinem Fall zeitlich mit dem Gipfel der Transaminasen zusammenfiel.

In diesem Zusammenhang verdient ein Beobachtungsfall besondere Beachtung:

Eine 56-jährige Patientin (Nr. 13) mit der histologischen Diagnose einer gering fortschreitenden chronischen Hepatitis zeigte bei normalen Transaminasen und weitgehend normaler Gesamt-LDH (s. Tabelle 7) eine massiv erhöhte LDH 5 während eines Beobachtungszeitraumes von 55 Tagen.- Wenn man auch zugestehen

muß, daß zwischen dem histologischen Bild und dem Enzymaktivitätsanstieg im Serum nicht unbedingt eine Korrelation bestehen muß, da die Merkmale der Entzündung vorwiegend nach der mesenchymalen Reaktion und zelligen Infiltration des Gewebes beurteilt werden, die Messung der Enzymaktivitäten aber in erster Linie die Permeabilitätsstörung oder Integrität des Leberparenchyms (Epithel) anzeigt, so ist dieser Fall schwer zu deuten. Die LDH 5 fällt fast völlig aus dem übrigen Enzymmuster heraus. Es handelt sich vielleicht in diesem Fall um eine Stoffwechselstörung der Leberparenchymzelle selbst. Elektronenoptische Untersuchungen haben außerdem ergeben, daß das Bindegewebe bei chronischer Hepatitis mit Übergang in Cirrhose nicht nur ersatzweise dort vermehrt ist wo Leberzellen zugrunde gegangen sind, sondern das kollagene Fasern auch invasiv in Leberzellen vordringen, deren Mitochondrienstruktur noch gut intakt ist [82].

All dies kann aber nicht die Dissoziation der Aktivität von Transaminasen und LDH 5 erklären (s. Abb.11 a).

Obiger Fall, und in gewissem Umfang auch die anderen Fälle dieser Gruppe, stehen mit den Ergebnissen von Dubach [65] nicht im Einklang. In den vorliegenden Untersuchungen zeigt sich mehrfach eine deutliche Diskrepanz zwischen GPT-Aktivität und Aktivität der LDH 5, die bei den einzelnen Stadien im Verlauf der akuten Hepatitis nicht in dem Umfang beobachtet werden konnte.

Die Ergebnisse von Trujillo und Mitarbeitern [70] sind in diesem Zusammenhang etwas schwer zu beurteilen, da offenbar nicht zwischen aktiver und inaktiver Form der Cirrhose unterschieden wird.

ABB. 11

HOCHAKTIVE CHRON. AGGRESSIVE V-HEPATITIS / HEP. CIRRHOSE
MIT TEILWEISE AKUTEN SCHUBEN

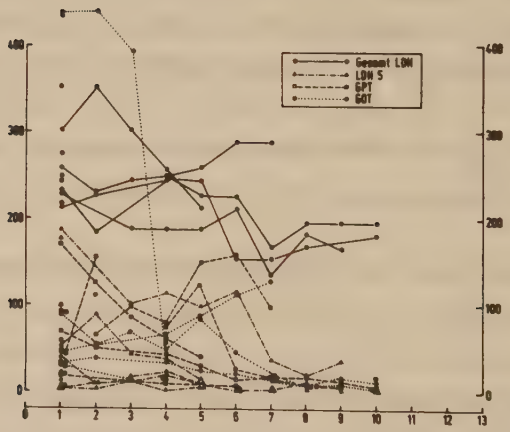


Abb. 11 a

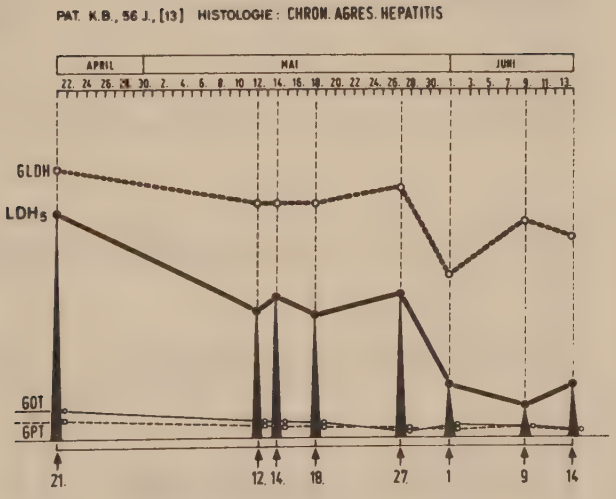

PAT. K.B., 56 J., [13] HISTOLOGIE: CHRON. AGRES. HEPATITIS
APRIL
MAI
JUNI
GLDH
LDH5
GOT
GPT
21.
12. 14.
18.
27.
1
9
14

Tabelle 7

Chronische Hepatitis oder Cirrhose mit ausgeprägter Aktivität

H. Edelgard, 64 J. Pat. Nr. 2

Tag	Ges.LDH	LDH 1	LDH 2	LDH 3	LDH 4	LDH 5	GOT	GPT	Ch'ase	THY	a.P'ase
1.	256	107	69	19,2	21,8	38,4	90,8	57,4			90
8.	226	136	79	4,5	-	6,8	51,3	64,0			
13.	241	120,5	89,5	17	4,8	9,6	68,7	97,7			
20.	241	144	91	6	-	-	45,6	79	39		97
29.	256	149	85	13	5	5	84,7	148	38	6,6	98
34.	287	218	64	6	-	-	117	155		4,8	
41.	287	181	100	6	-	-	125	97	10	2,4	98
	R. Claudia, 20 J. Pat. Nr. 8										
1.	226	157	38,4	9,1	2,3	1,2	27,2	68,7			
7.	182	119	63	-	-	-	35,2	49,4	128	10,7	
16.	241	133	84	-	7,2	17	30,4	40,3	115	10,7	32
23.	241	135	77	22	2,5	5	19,7	28,8	100	9,7	
32.	153	101	57	9	-	1,5	15,4	12,5	96	10,2	
39.	153	93	52	7,5	-	-	12,5	15,4	100	12,25	19
46.	167	103	48	8	1,5	8	12,5	13,9	115	10,6	
60.	182	124	40	13	5,5	-	9,7	8,4			
	K. Babette, 56 J. Pat. Nr. 13										
1.	226	29,4	11,3	-	-	185,3	24,2	15,4	105	7,9	76
16.	196	53	24	17	-	102	13,9	8,4			
24.	196	49	23,5	10	-	114	11,1	8,4			
28.	196	78	20	-	-	99	11,1	9,7			
37.	211	80	12	2	-	117	9,7	11,1	80	5,4	
41.	136	65	16	2,7	13,6	38	9,7	8,4	82	3,7	
49.	182	104	25	20	13	20	9,7	6,9	100	6,8	
55.	167	82	28	20	-	37	5,5	5,5			

Chronische Hepatitis oder Cirrhose mit ausgeprägter Aktivität

B. Elisabeth, 19 J. Pat. Nr. 21

Tag	Ges.LDH	LDH 1	LDH 2	LDH 3	LDH 4	LDH 5	GOT	GPT	Ch'ase	THY	a.P'ase
1.	211	81	99	25,4	6,4	-	43	90,8	110	9,7	
18.	241	125	82	12	2,5	19	64	74	145	6,6	63
25.	226	151	61	4,5	2,5	7	85	112	128	11,6	
32.	226	145	81	-	-	-	47,5	25,7	90	3,0	
40.	167	118	35	8,5	3	1,5	13,9	12,5	128		
47.	196	131	51	8	6	-	6,9	6,9	115	11,6	
53.	196	155	41	-	-	-	15,4	12,5			
61.	196	139	49	6	2	-	12,5	13,9			

R. Margarete, 47 J. Pat. Nr. 58

1.	302	136	103	9	3	51	456	168	18,5	18,9	117
7.	351	88	155	14	10,5	84,5	456	125	18,5	18,5	88
13.	302	127	127	6	-	42	386	84	18	20,3	
19.	256	154	64	8	-	40	57,4	57,4			
27.	211	137	53	8	-	13	35,2	38,6			

Wa. Paul, 42 J. Pat. Nr. 59

1.	211	154	42	6,4	2,1	6,4	36,8	42,0			
8.	226	258	45	13,5	2,3	6	111	154			

He. Gabi, 37 J. Pat. Nr. 69

1.	241	108	77	14,5	7	31,5	89	97			

Ge. Maria, 62 J. Pat. Nr. 45

1.	351	95	53	14	14	176	533	242			

Ba. Günter, 50 J. Pat. Nr. 57

1.	271	144	92	22	-	14	31,9	24,2			

Chronische Hepatitis oder Cirrhose mit mäßiger Aktivität

(Tabelle 8)

Bei allen 15 Patienten dieser Gruppe blieb die Aktivität der LDH 5 während des ganzen Beobachtungszeitraumes im Normbereich, wobei die Gesamt-LDH leichten Schwankungen der Transaminasen folgte, die das Isoenzymbild aber in keinem Fall beeinflußten (Abb.12).

Ähnliche Erfahrungen machten Dubach und Variakojis [65]. Sie fanden ebenso eine leicht vermehrte Aktivität der Gesamt-LDH bei kompensierter Cirrhose ohne Erhöhung der leberspezifischen Fraktion. Allerdings erfolgten ihre Bestimmungen mit Hilfe der Hitzeaktivierungsmethode (s.Methodik), die - wie oben erwähnt - grundsätzlich nur eine Auftrennung in 2 bis 3 Fraktionen erlaubt.

Bondar et al.[67] fanden auch bei inaktiver Cirrhose eine leichte Erhöhung der LDH 5. Bei der Bestimmung der LDH 5 Aktivität in Homogenaten der durch Leberblindpunktion gewonnenen Leberstanzzylinder fanden sie eine dem erhöhten Serumwert entsprechende intrazelluläre Erniedrigung der LDH, die in zeitlichem Einklang mit histologisch nachweisbaren regenerativen Prozessen stand. Auf die Problematik derartiger Untersuchungen weisen Arnold und Pette [64] hin.

Abb. 12

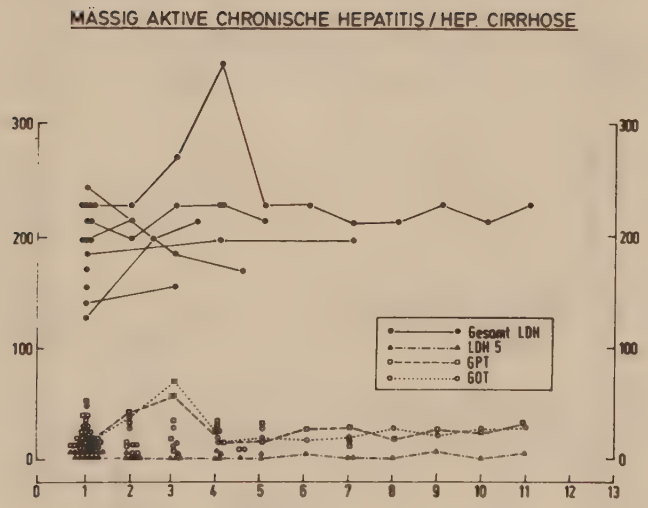

MÄSSIG AKTIVE CHRONISCHE HEPATITIS / HEP. CIRRHOSE
300
200
100
0
Gesamt LDH
LDH 5
GPT
GOT
0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13

Tabelle 8

Chronische Hepatitis oder Cirrhose mit mäßiger Aktivität

K. Rosa, 71 J. Pat. Nr. 1

Tag	Ges.LDH	LDH 1	LDH 2	LDH 3	LDH 4	LDH 5	GOT	GPT	Ch'ase	THY	a.P'ase
1.	226	136	90	-	-	-	10,3	13,8	35	19,4	
6.	225	130	81	13,5	-	-	36,8	40,3			
16.	270	142	109	19	-	-	69	55	38		118
22.	351	197	140	14	-	-	19,7	18,3	54	14,8	112
27.	226	148	75	4,5	-	-	19,7	16,8		9,7	
28.	226	113	95	9	4,5	4,5	18,3	25,7	20	7,4	
38.	211	126	85	-	-	-	18,3	28,8	18,5		182
46.	211	139	68	4	-	-	25,7	19,8	32	4,7	
51.	226	145	72	5	-	5	21,2	24,2			
58.	211	135	72	4	-	-	24,7	22,7			
64.	226	154	61	4,5	2,3	4,5	31,9	30,4			

Ja. Gerhard, 33 J. Pat. Nr. 7

1.	126	91,5	23,4	5	3,8	2,5	13,9	16,8			
8.	197	146	45,5	6	-	-	12,5	16,8			
10.	211	164	47	-	-	-	12,5	18,3			

Gr. Elisabeth, 29 J. Pat. Nr. 34

1.	182	147	35	-	-	-	9,7	12,5			
19.	196	145	41	10	-	-	11,1	11,9			
42.	196	136	41	16	4	-	15,4	15,4			

Re. Brigitte, 44 J. Pat. Nr. 38

1.	196	128	68	-	-	-	15,4	13,9			

Chronische Hepatitis oder Cirrhose mit mäßiger Aktivität II

Sr. Tha. 69 J. Pat. Nr. 46

Tag	Ges.LDH	LDH 1	LDH 2	LDH 3	LDH 4	LDH 5	GOT	GPT	Ch'ase	THY	a.P'ase
1.	226	159	59	9	-	-	12,5	22,7			

Di. Walter, 51 J. Pat. Nr. 54

1.	196	124	51	12	4	6	28,8	30,4			

H. Sigrid, 24 J. Pat. Nr. 63

1.	139	104	21,5	5,5	-	3	12,5	8,4			
15.	153	107	31	7,6	4,4	3	6,9	6,9			

Ki. Franz, 40 J. Pat. Nr. 70

1.	196	155	49	-	-	4	19,7	21,2	115	21,2	64
5.	211	170	34	6	-	-	16,8	16,8			

M. Josef, 64 J. Pat. Nr. 79

1.	211	137	42	21	8	2	16,8	18,3			

O. Josef, 40 J. Pat. Nr. 52

1.	211	127	65	13	4,2	4,2	27,2	35,2	33	11,1	65
9.	196	141	49	6	-	-	28,8	30,4	25	6,4	
15.	226	136	77	9	2,3	2,3	28,8	33,4	38	8,8	70
20.	226	138	52	16	14	7	25,7	28,8			
21.	226	113	84	18	7	4,5	25,7	31,9			
28.	211	131	65	8,5	2	4	28,8	27,2			

Chronische Hepatitis oder Cirrhose mit mäßiger Aktivität III

Be. Gernot, 29 J. Pat. Nr. 3

Tag	Ges.LDH	LDH 1	LDH 2	LDH 3	LDH 4	LDH 5	GOT	GPT	Ch'ase	THY	a.P'ase
1.	226	163	53,1	11,4	-	-	9,7	18,3			
	R. Simon, 71 J. Pat. Nr. 30										
1.	241	113	104	14,5	2,5	5	47,5	49,4	70	17,5	166
14.	182	102	63	17	-	-	12,5	8,4			
24.	167	116	45	6,5	-	-	9,7	8,4			
	Sch. Jürgen, 26 J. Pat. Nr. 64										
1.	167	102	57	6,7	1,7	-	15,4	9,7			
	Fr. Carola, 46 J. Pat. Nr. 61										
1.	226	165	43	7	7	4,5	21,2	36,8			
	Ge. Otto, 47 J. Pat. Nr. 53										
1.	153	107	46	-	-	-	13,9	21,2			

Zusammenfassung:

Die vorliegenden Untersuchungen befassen sich zunächst eingehend mit der Entwicklung von Modifikationen der angewendeten Methode, wobei die Problematik verschiedener Arbeitsgänge innerhalb des Verfahrens beschrieben wird. Besondere Schwierigkeiten bereitete die Herstellung einer stabilen Färbelösung, da sich die in der Literatur angegebenen Verfahren als umständlich erwiesen. Die nachfolgende Auswertung mußte d en Gegebenheiten eines Routinelabors weitgehend angepaßt werden, um den normalen Arbeitsablauf nicht zu stören.

Mit dieser von uns erarbeiteten Methode wurden die Blutseren einer größeren Gruppe von Patienten und einer kleineren Gruppe lebergesunder Kontrollpersonen insgesamt 228 mal untersucht und dabei die Aktivitäten der Transaminasen und der LDH mit Auftrennung der Isoenzyme untersucht. Bei sämtlichen Patienten wurden zusätzlich noch andere Leberfunktionsproben durchgeführt, um eine möglichst umfassende Aussagefähigkeit über die Leberfunktion und ihre Beeinträchtigung zu erhalten.

In der Gruppe der Patienten wurden alle Diagnosen durch Leberpunktion histologisch gesichert.

Es wurde vor allem Wert darauf gelegt, pathologische Isoenzymverteilungen bei unauffälliger Gesamt-LDH zu entdecken, was allerdings nur in einem Fall gelang, nach den

Angaben in der Literatur jedoch relativ häufig sein soll.

Die Befunde, die im Verlauf einiger chronischer Leberkrankheiten erhoben werden konnten, sowie die Befunde im Verlauf der chronischen Hepatitis lassen den Schluß zu, daß die LDH und die Auftrennung in ihre Isoenzyme in den weitaus meisten Fällen nicht empfindlich genug ist, um die Treffsicherheit zur Erfassung Krankheitsbedingter Funktions- und Integritätsstörungen im Rahmen von Verlaufskontrollen zu erhöhen. Auch erscheint ihre Aussagekraft zu gering, irgendwelche prognostischen Schlüsse aus der Verteilung der einzelnen Isoenzymfraktionen im Verlauf einiger Leberkrankheiten zu gewinnen.

Das angewendete Verfahren ergibt zwar exakte, reproduzierbare Meßwerte, ist aber zu aufwendig, um für vorliegende Fragestellung in einem Routinelabor eingesetzt zu werden. Vor allem, da die Aussagekraft der Ergebnisse in keinem günstigen Verhältnis zum Arbeitsaufwand steht.

Ganz allgemein ergibt sich auf Grund vorliegender Arbeit, daß die Auftrennung der Isoenzyme der LDH in größerem Umfang, zumindest für die Verlaufsbeurteilung der Leberkrankheiten keinen wesentlichen und für Routineuntersuchungen empfehlenswerten Fortschritt darstellt.

Literatur:

1) Wróblewski, F.: Progr. Cardiovasc. Dis. 6,63 (1963)

2) Wieland,Th. und E.D. Wachsmuth: Biochem. 2. 334, 185 (1961)

3) Plagemann,P.G.W., Gregory,K. und F. Wróblewski: The Electrophoretically Distinct Forms of Mammalian Lactic Dehydrogenase. J.biol.chem. 235/2282 (1960)

4) Wieland,Th. und Pfleiderer,G.: Nachweis der Heterogenität von Milchsäuredehydrogenase verschiedenen Ursprungs durch Trägerelektrophorese. Biochem. 2. 329/112 (1957)

5) Goldberg,E.: Science 139/602 (1963)

6) Blanco,A. und Zinkham,W.H.: Science 139/601 (1963)

7) Clausen,J. und Olivsen,B.: Lactate dehydrogenaseisoenzymes of human semen . Biochem. J. 97, 513 (1965)

8) Zinkham,W.H.: Lactate Dehydrogenase Isozymes of Testis and Sperm: Biological and Biochemical Properties and Genetic control: Ann.N.Y. Acad. Sci. 151 No. 1 598-610 (1968)

9) Hawtray,C. und Goldberg,E.: Differential Synthesis of LDH in Mouse Testis. Ann. N.Y. Acad. Sci. 151, No. 1 611-15 (1968)

10) Clausen,J.: LDH -IE of Sperm Cells and Testis Biochem. J. 111, No. 2, 207-18 (1969)

11) Rotbol,L., Hemmingsen,L., Schmidt,V.: Protein Pattern and LDH-Isoenzymes in Human Seminal Plasma with Reference to Fertility: Clin. Chim. Acta 25, 1 (1969)

12) Pfleiderer,G., Wachsmuth,E.D.: Alters-und funktionsabhängige Differenzierungen der LDH menschlicher Organe. Biochem. 2. 334, 185-194 (1961)

13) Wachsmuth,E.D., Pfleiderer,G., Wieland,Th.: AS-Zusammensetzung von IE der LDH aus menschlichen und tierischen Organen.

14) Wieland,Th. et al.: Analytischer Beweis der Hybridnatur von IE der LDH. Biochem. Zeitschr. 340, 483-486 (1964)

15) Richterich,R., Schafroth,P., Aebi,H.: A Study of LDH-Isoenzyme pattern of human tissues by adsorption-elution on Sephadex-DEAE. Clin. Chim. Acta 8, 178 (1963)

16) Bergmeyer,H.V., Berut,E., Hess,B.: Lactat-Dehydrogenase Verlag Chemie Weinheim/Bergstr. (1962)

17) Dubach,U.C. Organspez. Diagnose mit Hilfe der IE der LDH

Schweiz. Med.Wschr. 45/1436 (1962)

18) Wüst,H.: IE der LDH in der klin. Diagnostik Methode der thermischen Inaktivierung. Med. Welt. 1798/1965

19) Kolm,J.: Zur Technik der Celluloseacetat-Elphor. "Das Ärztliche Laboratorium" X. Jg.Heft 8 u.9 (1964)

20) Knedel,M., Eberhard,K. und Kirzeder,H.: Zur Technik der Isoenzymelektrophorese der LDH in Agar-Gel unter Anwendung einer geregelten Konvektionskühlung. G-I-T-Fachzeitschrift für das Laboratorium, Darmstadt, 631-636, 1966, Heft 7

21) van der Helm,H.J., Zondag,H.A., Hartog,H.A.: Lactic dehydrogenase isoenzymes in myocardial infarction. Clin. Chim. Acta 7, 540 (1962)

22) Preston,J.A., Briere,R.O., Batsakis,J.G.: Am.J.Clin. Path 43 : 256, 1965

23) Wilkinson,J.H.: Enzyme tests in the diagnosis of myocardial infarction: Geriatrics, 20/8. S. 637-650, 1965

24) Schneider,K.W., Heise,E.R. und Lehman,F.G.: Klin. Untersuch. über die α-HBDH und deren Bedeutung für die Differentialdiagnose. Enzymol. biol.clin. 4/1 S. 1-22, 1964

25) Elliott,B.A. and Wilkinson,J.H.: The serum " α-hydroxybutyratdehydrogenase" in deseases other than myocardial infarction. Clin.Sci. 24 S. 343-355 (1963)

26) Schneider,K.W., Lehmann,F.G. und Hornung,G.: α-Hydroxybutyrat und Lactat-Dehydrogenase bei Lebererkrankungen. Med. Klin. 60/1 S. 6-11, 1965

27) Preston,J.A., Batsakis,J.G. and Briere,R.O.: A chimical and Laboratory Evaluation in Patients with Myocardial Infarkt. Amer.J.Clin. Pathol. 41/3 S. 237-243, 1964

28) s. 23

29) s. 25

30) Wüst,H. und Thuss,G.: Vergleichende Untersuchungen von LDH-Isoenzym-Bestimmungsmethoden. Ärztl. Labor. 12 : 97-108 (1966)

31) Cahn,R.D., Kaplan,N.O., Levin,L. and Zwilling,E.: Science 136 : 962 (1962)

32) Markert,C.L., Möller,F.,: Proc.nat.Acad.Sci. (Wash.) 45, 753 (1959)

33) Wüst,H.: Isoenzyme der Lactatdehydrogenase (LDH) in der klinischen Diagnostik. Methode der thermischen Inaktivierung. Med. Welt 1798-1806 (1965)

34) Amelung,D.: Dtsch.Med.Wschr. 86: 731 (1961)

35) Hess,B. und Walter,S.: Klin. Wschr. 39:213 (1961)

36) Dubach,U.C.: Organspezifische Diagnose mit Hilfe von Isoenzymen der Serum-Lactatdehydrogenase. Schweiz.Med.Wschr. 45/1436 (1962)

37) Wieme,R.J.: Agar gel electrophoresis Elsevier, Amsterdam/ London/New York/ (1965)

38) Nisselbaum,I.S., Bodansky,J.: Biol.Chem. 234 S. 3276-3280, 1959

39) Wieme,R.J.: Studies on Agar gel electrophoresis, techniques, applications (Arscia Uitgaven N.V., Brüssel 1959)

40) Wroblewski,F., Ruegsegger,P. und La Due,J.S.: Serum Lactic dehydrogenase activity in acute transmural myocardial infarction. Science 123, 1122 (1956)

41) Meister,A.: Reduction of α,γ -diketo and α -keto acids catalyzed by muscle preparations and by cristalline lactic-dehydrogenase. J.biolchem. 184, 117 (1950)

42) Neilands,J.B.: Studies on lactic dehydrogenase of heart 1) Purity, Kinetics and equilibria J.biol.chem. 199, 373 (1952)

43) Vessell,E.S. and Bearn,A.G.: Localisation of lactic acid dehydrogenase activity in serum fractions. Proc.Soc.exp.Biol.(N.Y.) 94, 96 (1957)

44) Pfleiderer,G. und Jeckel,D.: Individuelle Milchsäuredehydrogenase bei verschiedenen Säugetieren. Biochem.2. 329, 370 (1957)

45) Wieland,Th. und Pfleiderer,G.: Nachweis der Heterogenität von Milchsäuredehydrogenase verschiedenen Ursprungs durch Trägerelektrophorese. Biochem. 2. 329, 112 (1957)

46) Wieland,Th., Pfleiderer,G. und Ortandel,F.: Vergleiche der Milchsäuredehydrogenase an verschiedenen Rattenorganen. Biochem. 2. 331, 103 (1959)

47) Amelung,D.: Die Heterogenität von Fermenten in den Organen und im Serum. Dtsch.med.Wschr. 86, 731 (1961)

48) Plagemann,P.G.W., Gregory,K.F. und Wróblewski,F.: The electrophoretically distinct forms of mammalian lactic dehydrogenase. 1. Distribution of lactic dehydrogenase in rabbit and human tissues. J. biol. chem. 235, 2288 (1960)

49) s. 39

50) Wroblewski,F. and Gregory,K.F.: Lactic dehydrogenase isoenzymes and their distribution in normal tissues and in desease states. Ann.N.Y. Acad. Sci. 94. 912 (1961)

51) s. 17

52) s. 30

53) Strandjard,P.E. und Clayson,K.J.: The diagnosis of acute myocardial infarction on the basis of heatstable serum lactic dehydrogenase. J.Lab. clin. Med. 58, 962 (1961)

54) Lattner,A.L. und Skillen,A.W.: Isoenzymes in Biology and Medicine. Academic Press/London (1968)

55) King,J.: Practical Chimical Enzymology, Van Nostrand, London 1965

56) Feissli et al.: Klinische Wochenzeitschrift 44, 390 (1966)

57) Stein,I.D.: Serum lactate dehydrogenase Isoenzymes Stability, clearance and diagnostic application in hemolytic anaemia . J.Lab.clin.med. Bd. 76 H 1 (1970)

58) Wakim,K.G., and Fleischer,G.A.: The fate on enzymes in body fluids -an experimental study IV. Relationship on the reticuloendothelial system to activities and disappearance rates of various enzymes. J.Lab.Clin.Med. 61, 107, (1963)

59) Mahey,B.W.J., Rowson,K.E.K. and Parr,C.W.: Effects of Riley's plasma elevating virus (RV) on control with plasma enzyme levels in mice.

60) Vesell,E.S., Fritz,P.J. and White,E.L.: Effects of buffer, pH, ionic strength and temperature on lactate dehydrogenase isoenzymes. Biochem.Biophys. Acta 159:236, (1968)

61) Fröhlich,CH. und Kurrle,E.: Zur Bedeutung unterschiedlicher Eliminationskonstanten von LDH-Isoenzymfraktionen für die Zusammensetzung der SLDH-Verteilungsmuster beim Menschen. Klin.Wschr. 47 H. 17, (1969)

62) Solbach,H.-G. und Merten,R.: Altersabhängige Änderungen von Enzym-Aktivitäten im Blut. Mitt.d.GBK II, 388, (1961)

63) Kröner,H.: Zellschädigung und Serumenzyme. Deutsche Med.Wschr. Nr. 13, 551 (1971)

64) Arnold,H., Pette,D.: Binding of glycolytic enzymes to structure proteins of the muscle. Europ. J. Biochem. 6 (1968) 163

65) Dubach,U.C. und Variakojis,D.: Diagnostische Bedeutung der LDH-Isoenzyme (mit der Hitzeaktivierungsmethode). Schweiz.Med.Wschr. 34/1196, 35/1224,(1963)

66) Maier,K.P.: Quantitative Differenzierung der Untereinheiten der Lactat-Dehydrogenase im Verlauf der akuten Hepatitis.epidemica. Enzym.biol.clin. 11: 459-465, (1970)

67) Bondar,Z.A., Podymova,S.D., Burchakova,G.I.: Changes in Isoenzymes of Lactatdehydrogenase in chronic deseases of the liver. Therap. Arch., Moskva 40 (1968 Nr. 12, S. 57-67

68) Baklanova,G.A. und Markelov,I.M.: The total activity of Lactatdehydrogenase and of its isoenzymes in infections hepatitis. Therap. Arch., Moskva 40 (1968) Nr. 5, S. 49-53

69) Clausen,J. und Hustrulid,R.: Factors affecting recombination of Lactate-Dehydrogenase Isoenzymes Subunits. Biochem. Biophys. Acta 167 (1968) 221-226

70) Trujillo,N.P. et al.: The Isoenzymes of Lactic Dehydrogenase. II. Pulmonary Embolism, Liver Desease, the Postoperative State, and other Medical Conditions.
Arch. Intern.Med. 119 (1967) 333-344

71) Schmidt,F.W.: Funktionsdiagnostik von Leberkrankheiten.
Internist. 8, Nr. 12, 431-438 (1967)

72) Wieme,R.J. und Van Maercke,Y.: The fifth (electrophoretically slowest) serum lactic dehydrogenase as an index of liver injury.
Ann.N.Y. Acad. Sci. 94:898 (1961)

73) Zimmermann,H.J.: Serum enzymes in the diagnosis of hepatic desease.
Gastroenterology 46 : 613 (1964)

74) Bardawill,Ch. and Chang,C.: Serum lactic dehydrogenase, Leucine-Aminopeptidase and 5-Nucleotidase Activities: Observations in Patients with Carcinoma of the Pankreas and Hepatobiliary Disease.
Canad.Med.Assoc.J. 89: 755 (1963)

75) Neumeister,E., Otto,P., Schmidt,E. und Schmidt,F.W.: Quantitative Bestimmung der Isoenzyme der Malat-Dehydrogenase, Glutamat-Oxalacetat-Transaminase und Lactat-Dehydrogenase im Serum bei Leberkrankheiten .
Med.Welt, 27: 1479, (1965)

76) Rettenbacher-Däubner,H. und Rieder,H.: Kreatinphosphokinase und LDH-Iso-enzyme beim Herzinfarkt
Wien.Klin.Wschr. 47:833, (1963)

77) Wüst,H. und Thuss,G.: Vergleichende Untersuchungen von LDH-Isoenzymbestimmungsmethoden.
Ärztl. Labor 12:97-108, (1966)

78) Wüst,H.: Isoenzyme der Lactatdehydrogenase in der klinischen Diagnostik. Methode der thermischen Inaktivierung .
Med.Welt 32, 1798-1806, (1965)

79) Reith,A., Möhr,I., Schmidt,E., Schmidt,F.W. und Wildhirt,E.: Isoenzyme und Veränderungen der Isoenzymverteilung von Malat-und Isocitrat-Dehydrogenase und Glutamat-Oxalacetat-Transaminase in der normalen und pathologisch veränderten tierischen und menschlichen Leber.
Klin.Wschr. 42, 909 (1964)

80) Wüst,H., Schön,H.: Fermente im Serum bei Leberkrankheiten. Pallas Verlag, Lochham/München (1961)

81) Schmidt,E. und Schmidt,F.W.: Enzymbestimmungen im Serum bei Leberkrankheiten. Enzymol. biol.clin. 3, 1, (1963)

82) Gerlach,U.: Enzymaktivität im Serum bei Krankheiten der Leber- und Gallenwege in: Praktische Enzymologie, Hanns Huber Verlag Bern-Stuttgart (1968) S. 165-196

Lebenslauf

Am 10. August 1946 wurde ich als Sohn des Dr.med. Rolf Kellner und seiner Ehefrau Marianne, geb. Scholz, in Braunschweig geboren.

Von 1952 bis 1956 besuchte ich die Volksschule in Broitzem, Kreis Braunschweig, und von 1956 bis 1965 das Wilhelm-Gymnasium in Braunschweig.
Anschließend begann ich im Sommersemester 1965 das Medizinstudium an der Universität München. Hier legte ich im Sommer 1966 die naturwissenschaftliche und im Herbst 1967 die ärztliche Vorprüfung ab.
Das klinische Studium absolvierte ich in Genf und München. Im Dezember 1970 schloß ich das Studium in München mit dem Staatsexamen ab.